

DETEKSI MOLEKULER ASOSIASI BEGOMOVIRUS DENGAN PENYAKIT KERITING KUNING CABAI DI PAKIS DAN BANYUURIP, MAGELANG INDONESIA

Effi Alfiani Sidik¹⁾

¹⁾Loka Penelitian Penyakit Tungro, Lanrang, Sulawesi Selatan
email: effi.alfiani.s@mail.ugm.ac.id

ABSTRACT

Begomovirus associated to yellow-curl disease, is an obstacle to the production of chilli in various countries, especially in Indonesia. The characterization of the visual symptoms caused by Begomovirus varies widely. The detection method used must be effective and accurate therefore provide a precise control. This study aims to detect Begomovirus infection using PCR and identify symptoms of yellow-curl disease in Magelang Regency. The research included a sample collection of chilli in Pakis and Banyuurip (Magelang), observing of variation of symptoms of Begomovirus infection, and molecular detection. Primer pairs pAL1v1978/pAR1c715 has successfully detected the association of Begomovirus with yellow-curl disease on chilli at Pakis by symptoms: mosaic, leaf cupping, plant stunting, curling, and malformation. PCR results showed that Begomovirus was not association with yellow-curl disease on chilli at Banyuurip. Molecular evidence for Begomovirus is absolutely necessary because detection based on the visual appearance of symptoms alone is not sufficient to prove infection.

Keywords: *Begomovirus, Chilli, PCR, universal primer, yellow-curl disease*

1. PENDAHULUAN

Berdasarkan tipe kisaran inang, serangga vektor, dan struktur genomnya, Begomovirus termasuk dalam famili Geminiviridae bersama dengan genus Curtovirus, Masterevirus, dan Topocuvirus (Fauquet *et al.*, 2008; Sakata *et al.*, 2008). Dibandingkan dengan ketiga genus yang lainnya, Begomovirus merupakan genus terbesar (lebih dari 80% famili Geminivirus) yang menyebabkan penyakit keriting kuning pada berbagai tanaman di negara tropikal dan subtropikal (Malathi *et al.*, 2004; Sakata *et al.*, 2008). Genom Begomovirus dapat berupa monopartit dan bipartit (Malathi *et al.*, 2004). Begomovirus ditransmisikan oleh kutu kebul secara persisten sirkulatif (Brown and Bird, 1992; Hunter *et al.*, 1998; Ghanim *et al.*, 2001).

Tanaman famili Solanaceae termasuk di dalamnya cabai merah besar (*Capsicum annuum* L.) dan cabai rawit (*C. frutescens* L.) merupakan komoditas hortikultura yang banyak ditanam karena memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Menurut Antriyandarti dan Ani (2015), Magelang merupakan kabupaten di Propinsi Jawa Tengah yang merupakan salah satu sentra produksi cabai merah. Salah satu faktor pembatas yang menyebabkan produksi tanaman tersebut menurun adalah penyakit keriting kuning yang disebabkan oleh Begomovirus. Infeksi Begomovirus pada tanaman cabai di Jawa Barat pertama kali dilaporkan tahun 1999 (Hidayat *et al.*, 1999), awal tahun 2000 di Jawa Tengah (Sulandari, 2004), dan di Pulau Lombok (Nusa Tenggara Barat) sejak tahun 2006 (Windarningsih, 2015). Epidemi

penyakit daun keriting kuning banyak terjadi di sentra-sentra produksi cabai terutama di Pulau Jawa (Hidayat *et al.*, 2006). Infeksi Begomovirus menyebabkan kehilangan hasil berkisar 20-100% Sulandari *et al.*, 2001).

Gejala khas yang ditimbulkan oleh infeksi Begomovirus pada tanaman cabai yaitu tepi daun menggulung ke atas, penebalan daun, dan helai daun berwarna kuning cerah (Sulandari, 2006). Namun gejala yang ditimbulkan di lapang terutama di Magelang (setelah dilakukan survei), terlihat sangat komplek dengan berbagai variasi gejala di tiap lokasi pertanaman cabai. Hal tersebut menyulitkan dalam identifikasi hanya berdasarkan pada gejala yang ditimbulkan, sehingga perlu dilakukan pendekatan identifikasi secara molekuler.

Identifikasi Begomovirus secara molekuler dari berbagai sampel tanaman sakit di Indonesia telah banyak dilakukan terutama di Pulau Jawa. Metode deteksi maupun karakterisasi virus tumbuhan banyak dikembangkan menggunakan teknik molekuler berbasis asam nukleat berupa *Polymerase chain reaction* (PCR) (Accotto *et al.*, 2000; Aidawati *et al.*, 2005). Kekhususan PCR didasarkan pada penggunaan primer oligonukleotida yang akan mengamplifikasi sekuens DNA target (Rojas *et al.*, 1993). Reaksi berantai polimerase (PCR) merupakan teknik molekuler yang sangat sensitif dan spesifik dibandingkan dengan metode deteksi serologis (Saiki *et al.*, 1988; Rojas *et al.*, 1993). Metode PCR pertama kali dikembangkan pada tahun 1985 oleh Kary B. Mullis, seorang peneliti di perusahaan CETUS

Corporation, selanjutnya metode PCR hingga sekarang telah banyak digunakan untuk berbagai macam analisis genetik (Yuwono, 2006). Penggunaan primer universal Begomovirus telah berhasil digunakan untuk mengidentifikasi penyakit keriting kuning pada tanaman cabai dari berbagai lokasi yang berbeda (Rojas *et al.*, 1993; Sulandari, 2004; Hidayat *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan deteksi secara molekuler sebagai bukti adanya infeksi Begomovirus pada tanaman cabai. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi infeksi Begomovirus menggunakan PCR dan mengidentifikasi gejala penyakit keriting kuning pada dua lokasi yang berbeda di Kabupaten Magelang.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Lokasi Penelitian, Survei Lapangan, dan Metode Koleksi Sampel Tanaman Terinfeksi Begomovirus

Penelitian dilakukan di Laboratorium Virologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Lokasi survei lapangan dan koleksi sampel daun cabai merah besar dilakukan di Pakis, dan cabai rawit di Banyuwirip Kabupaten Magelang, Jawa tengah. Metode yang digunakan dalam koleksi sampel adalah sampel terpilih (*purposive sample*). Menurut Morissan (2012), *purposive sample* merupakan tipe penarikan sampel nonprobabilitas, unit yang akan diamati atau diteliti dipilih berdasarkan pertimbangan peneliti yang dianggap paling bermanfaat dan representatif. Sampel daun disimpan di dalam suhu ruang yang kedap udara (plastik klip) kemudian disimpan di dalam *deep freezer* pada suhu -80°C sebelum dilakukan ekstraksi DNA.

2.2. Deteksi Molekuler Begomovirus

Begomovirus dideteksi melalui tahapan ekstraksi DNA total tanaman, amplifikasi *template* DNA dengan teknik PCR, dan visualisasi fragmen DNA menggunakan elektroforesis.

Ekstraksi DNA Total Tanaman Hasil Koleksi

Ekstraksi DNA total tanaman cabai menggunakan Genomic DNA Mini Kit (Geneaid). Ekstraksi DNA dari jaringan tanaman cabai terdapat 5 tahapan yaitu tahapan penguraian jaringan, *lysis*, DNA *binding*, *wash*/pencucian, dan DNA *elution*. Pertama tahapan penguraian jaringan dengan cara sampel segar masing-masing ditimbang sebanyak 50 mg ditambahkan GP1 buffer 400 µl dan RNase A 5 µl, digerus hingga halus menggunakan mortar. Sampel

dipindahkan ke tube 1.5 ml yang kosong. Selanjutnya tahap *lysis*, sampel diinkubasi ke penangas air 60°C selama 10 menit dengan dibolak-balik setiap 5 menit. Sambil menunggu inkubasi, 100 µl elution buffer dipindahkan pada tube baru dan diinkubasi ke penangas air suhu 60°C hingga digunakan pada tahap DNA *elution*. Setelah diinkubasi, ditambahkan GP2 buffer 100 µl, divortek 3 menit dan diinkubasi dalam es selama 3 menit. Dipindahkan dalam filter kolon tube 2 ml dan disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Akan terbentuk supernatan dan pelet, supernatan dipindahkan dari tube 2 ml ke tube 1.5 ml. Pada tahapan DNA *binding*, supernatan ditambah GP3 buffer 1.5 x volume supernatan, kemudian dimix dengan cara pipeting hingga tercampur. Larutan dipindahkan ke GD kolon tube 2 ml, disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan bagian bawah saringan dibuang, GD kolon bagian atas dipindahkan ke tube 2 ml. Pada tahapan pencucian (*wash*) ditambahkan W1 buffer 400 µl ke dalam GD kolon, kemudian disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit. Supernatan di bawah dibuang, dan ditambahkan wash buffer 600 µl, disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit (dilakukan sebanyak dua kali), selanjutnya disentrifus dengan tidak ditambahkan apa-apa dengan kecepatan 10.000 rpm selama 6 menit. Tahapan terakhir DNA *elution*, GD kolon dipindahkan ke tube 1.5 ml. Ditambahkan elution buffer 100 µl tepat ditengah kolon, kemudian diinkubasi selama 3-5 menit. Disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit. GD kolon dibuang dari tube 1.5 ml. Hasil ekstraksi disimpan di freezer dengan suhu -20°C.

Amplifikasi DNA Begomovirus Menggunakan Teknik PCR

Amplifikasi DNA hasil ekstraksi (cetakan/*template*) dilakukan dengan menggunakan sepasang primer universal Begomovirus pAL1v1978 (5'-GCATCTGCAGCCCCACATYGTCTTYCCNGT-3') dan pAR1c715 (5'-GATTTCTGCAGTTDATRT TYTCRTCCCATCCA-3') dengan produk amplifikasi 1600 pasang basa (Rojas *et al.*, 1993). Total master mix PCR adalah 25 µl dengan komposisi 12.5 µl DreamTaq Green PCR master mix (2X), 2 µl 10 pmol setiap primer pAL1v1978 dan pAR1c715, 1 µl 10 ng *template* DNA, dan 7.5 µl *nuclease free water*, serta ditambahkan 15 µl parafin cair. Profil PCR dilakukan melalui tahapan denaturasi awal pada 94°C selama 5 menit, 30 siklus terdiri dari denaturasi 94°C selama 1 menit, *annealing* 55°C selama 2 menit, *extension* 72°C selama 2 menit, *final extension* 72°C selama 10 menit menggunakan mesin MJ Research PTC-150 Mini Thermal Cycler.

Visualisasi Fragmen DNA Begomovirus

Produk PCR divisualisasi dengan elektroforesis 1.5% gel agaros (Bio-Rad) dalam larutan penyangga 1X TBE (Tris Borate-EDTA) dengan total volume 15 ml. Sebanyak 4 µl dari masing-masing produk PCR ditambahkan 2 µl *loading dye* 6X, setelah tercampur kemudian dimasukkan pada sumuran gel agaros. Digunakan marker 1 Kb dalam menentukan ukuran fragmen DNA target. Alat elektroforesis dihidupkan pada tegangan 100 V selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan perendaman selama 2 menit dalam larutan etidium bromida, dan dicuci dalam aquades selama 10 menit. Visualisasi fragmen DNA menggunakan UV Transluminator, dan didokumentasikan untuk mengetahui hasil amplifikasi target yang diinginkan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyakit keriting kuning pada cabai rawit yang disebabkan oleh Begomovirus sebelumnya telah terjadi di Magelang, tepatnya di Sawangan dengan gejala daun berubah warna menjadi kuning terang, kerdil, dan kerontokan bunga (Kusumaningrum, 2009); di Muntitan dengan gejala berupa daun menguning keseluruhan dan keriting (Wilisiani, 2019). Berdasarkan hasil survei, selain Sawangan dan Muntitan terdapat beberapa daerah lain di Kabupaten Magelang yang terindikasi terdapat insidensi penyakit keriting kuning. Daerah tersebut terletak di Pakis (cabai merah besar), dan di Banyuwirip (cabai rawit). Namun tetap perlu dilakukannya identifikasi gejala visual dan deteksi secara molekuler untuk membuktikan infeksi Begomovirus tersebut.

3.1. Variasi Gejala Infeksi Begomovirus pada Tanaman Cabai

Berdasarkan survei lapang dan koleksi sampel tanaman diperoleh satu sampel cabai merah besar di Pakis, dan satu sampel cabai rawit di Banyuwirip yang menunjukkan gejala infeksi yang bervariasi. Tanaman cabai merah besar di Pakis yang diduga terinfeksi begomovirus menunjukkan gejala mosaik, cuping, kerdil, keriting, dan daun muda mengecil/berubah bentuk (Gambar 1). Sedangkan tanaman cabai rawit di Banyuwirip menunjukkan gejala daun menguning (*yellowing*), mosaik, cuping, dan kerdil (Gambar 2). Ekspresi gejala yang ditimbulkan berbeda pada masing-masing lokasi, tetapi gejala begomovirus biasanya memperlihatkan karakterisasi gejala umum berupa mosaik, cuping, dan kerdil.



Gambar 1. Gejala infeksi pada sampel tanaman cabai merah besar di Pakis. (a) mosaik, cuping, kerdil, keriting, dan daun muda mengecil/berubah bentuk, (b) penampakan gejala yang diduga terinfeksi begomovirus di lapang, bagian belakang daun terdapat kutu kebul (vektor begomovirus).

Menurut Ariyanti (2011) semua variasi gejala infeksi virus yang muncul disebabkan karena dari terhambatnya aliran nutrisi (fotosintat) dari *source* ke *sink* akibatnya virus tersebut menguasai floem (*floem limited virus*). Tanaman tidak dapat tumbuh dengan normal dan menghasilkan buah jika terinfeksi pada awal pertumbuhan atau pada fase vegetatif. Adapun jika tanaman terinfeksi saat memasuki fase generatif maka buah yang dihasilkan akan bertekstur keras dan berbentuk kerdil.



Gambar 2. Gejala infeksi pada sampel tanaman cabai merah besar di Banyuwirip. (a) daun menguning, mosaik, cuping, dan kerdil, (b) penampakan gejala yang diduga terinfeksi begomovirus di lapang.

Karakteristik gejala yang ditimbulkan di masing-masing daerah bervariasi dan sangat kompleks, hal ini diakibatkan karena banyak faktor. Diduga dipengaruhi oleh umur tanaman ketika terinfeksi dan insidensi infeksi. Selain itu ketika virus menginfeksi maka laju fotosintesis akan menurun karena bentuk dan warna daun berubah. Menurut Ariyanti (2011) gejala berupa daun tanaman menjadi menguning dan mengeriting dapat disebabkan oleh stroma membesar, menurunnya

jumlah membran tilakoid, dan volume fotosintesis mengecil.

Penyebaran infeksi penyakit keriting kuning yang disebabkan Begomovirus berkaitan erat dengan populasi serangga vektor yaitu kutu kebul (*Bemesia tabaci*). Populasi kutu kebul di daerah Pakis sangat melimpah, banyak ditemukan menempel pada bagian belakang daun cabai (Gambar 1). Keberadaan vektor tersebut mendukung dugaan bahwa tanaman cabai tersebut terinfeksi oleh Begomovirus. Lain halnya dengan tanaman cabai di Banyuurip, tidak ditemukan populasi kutu kebul saat pengamatan. Menurut Wilisiani (2019) dan Sulandari *et al.* (2006), populasi kutu kebul yang melimpah berkaitan erat dengan penyebaran dan perkembangan infeksi Begomovirus pada daerah tropis.

3.2. Deteksi Molekuler Begomovirus menggunakan *Polymerase chain reaction* (PCR)

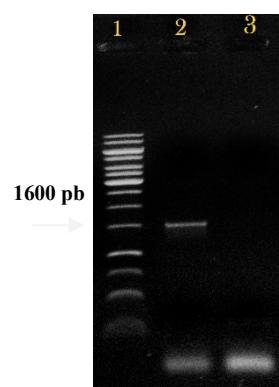
Selama tiga dekade terakhir penyakit yang disebabkan oleh Begomovirus menjadi kendala penting untuk produksi tanaman famili Solanaceae di berbagai negara. Sekitar tahun 1996 TYLCV terdeteksi di Jepang, di Cina pada tahun 2006, dan di Korea pada tahun 2008 (Kenyon *et al.*, 2014). Penyakit kuning pada cabai di Indonesia sangat berpotensi menimbulkan masalah besar pada pertanaman cabai. Pengendalian yang tepat menjadi penting sehingga perlu diketahui spesies penyebabnya melalui deteksi. Metode deteksi yang digunakan harus efektif dan akurat.

Polymerase chain reaction (PCR) yang berbasis asam nukleat dengan menggunakan primer universal dapat digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi Begomovirus dari tanaman yang berbeda dan tempat yang berbeda (Rojas *et al.*, 1993). Deteksi dengan PCR mudah dilakukan karena virus ini melakukan replikasi menggunakan sebuah DNA intermediet yang berbentuk sirkuler dan utas ganda yang dapat bertindak sebagai sebuah cetakan untuk amplifikasi PCR (Santoso *et al.*, 2008).

Deteksi Begomovirus dilakukan dengan metode PCR karena sulitnya mendapatkan titer virus yang cukup, disebabkan sifat fisik dan kimia partikel virus sehingga sulit dimurnikan dalam bentuk stabil (Roberts *et al.*, 1984). Primer PCR dapat mengamplifikasi dan menganalisis urutan basa DNA dari daerah spesifik genom pada Begomovirus yang memiliki genom bipartit. Prosedur PCR digunakan untuk isolasi DNA untuk amplifikasi PCR yang sangat sederhana dan dapat dilakukan pada sampel

dengan jumlah banyak dalam waktu yang singkat (Gilbertson *et al.*, 1991).

Penggunaan primer pAL1v1978/pAR1c715 telah berhasil mengamplifikasi fragmen DNA dengan ukuran ~1600 pasang basa (pb) pada sampel Pakis (Gambar 3). Selanjutnya bukti molekuler tersebut dapat menunjukkan adanya asosiasi Begomovirus dengan penyakit keriting kuning pada tanaman cabai merah besar di Pakis. Menurut Rojas *et al.* (1993), primer pAL1v1978/ pAR1c715 mengamplifikasi bagian DNA-A Begomovirus yang merupakan daerah konservasi tinggi.



Gambar 3. Hasil amplifikasi sampel tanaman cabai menggunakan sepasang primer universal pAL1v1978/pAR1c715. (1) DNA marker 1kb, (2) tanaman cabai merah besar di Pakis, (3) tanaman cabai rawit di Banyuurip.

Penyebaran infeksi Begomovirus pada tanaman cabai merah besar di Pakis dapat dibantu oleh kutu kebul. Menurut Aidawati *et al.* (2000), satu vektor kutu kebul yang viruliferous sudah mampu menularkan virus ke tanaman lainnya. Populasi kutu kebul banyak ditemukan di sekitar pertanaman, terlebih vektor tersebut memiliki kisaran inang yang luas.

Hasil deteksi molekuler menggunakan primer universal Begomovirus tidak menghasilkan fragmen DNA berukuran ~1600 pasang basa (Gambar 3) pada sampel Banyuurip, sehingga disimpulkan bahwa tanaman cabai rawit di Banyuurip tidak terinfeksi oleh Begomovirus. Meskipun gejala yang ditimbulkan sama persis dengan yang terinfeksi Begomovirus. Infeksi Begomovirus di lapangan perlu dideteksi menggunakan PCR untuk memastikan keberadaan molekuler virus tersebut (Mudmainah & Purwanto, 2010). Penampakan gejala infeksi yang sama dapat juga disebabkan jenis virus yang berbeda (Gaswanto *et al.*, 2016). Diduga bahwa gejala yang timbul pada sampel tanaman cabai rawit di Banyuurip disebabkan oleh infeksi virus lain, kekurangan unsur hara,

ataupun reaksi tanaman terhadap insektisida yang disemprotkan. Adanya dugaan infeksi oleh virus lain ini didasarkan pada terdapat temuan berupa keberadaan vektor lain yaitu aphid pada tanaman cabai yang diamati. Aphid merupakan vektor *Cucumber mosaic virus* (CMV) (James *et al.*, 2004). Gejala yang ditimbulkan mirip terinfeksi CMV, menurut Veniari *et al.* (2015), gejala infeksi CMV pada tanaman cabai berupa mosaik, menggulung (cuping), dan malformasi daun.

4. SIMPULAN

Assosiasi Begomovirus dengan penyakit keriting kuning pada tanaman cabai merah besar di Pakis telah berhasil dideteksi secara molekuler menggunakan primer pAL1v1978/pAR1c715. Infeksi Begomovirus menunjukkan gejala mosaik, cuping, kerdil, keriting, dan daun muda mengecil/ berubah bentuk (malformasi). Sedangkan tanaman cabai rawit di Banyuwangi tidak terinfeksi oleh Begomovirus. Pembuktian infeksi Begomovirus secara molekuler menggunakan PCR mutlak diperlukan untuk memastikan keberadaan virus tersebut. Sehingga deteksi berdasarkan kenampakan visual gejala saja belum cukup membuktikan adanya infeksi.

5. REFERENSI

- Accotto, G.P., J. Navas-Castillo, E. Noris, E. Moriones, and D. Louro. 2000. Typing of *Tomato yellow leaf curl viruses* in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 106: 179-186.
- Aidawati, N. 2000. Penularan virus kerupuk tembakau dengan *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Aidawati, N., S.H. Hidayat, R. Suseno, P. Hidayat, and S. Sujiprihati, 2005. Identifikasi Geminivirus yang menginfeksi tomat berdasarkan pada teknik Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. *J. Mikrobiol. Indon.* 10: 29-32.
- Antriandarti, E. dan S.W. Ani. 2015. pengembangan agribisnis cabai merah (*Capsicum annum* L.) di Kabupaten Magelang. *Media Trend.* 10 (1): 47-56.
- Ariyanti, N.A. 2011. Mekanisme infeksi virus kuning cabai (*Pepper yellow leaf curl virus*) dan pengaruhnya terhadap proses fisiologi tanaman cabai. Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi. 467-471.
- Brown, J.K. and J. Bird. 1992. Whitefly-transmitted Geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease.* 76: 220-225.
- Fauquet, C.M., R.W. Briddon, J.K. Brown, E. Moriones, J. Stanley, M. Zerbini, and X. Zhou. 2008. Geminivirus strains demarcation and nomenclature. *Arch Virol.* 153: 783-821.
- Gaswanto, R., M. Syukur, S.H. Hidayat, dan N. Gunaeni. 2016. Identifikasi gejala dan kisaran inang enam isolat begomovirus cabai di Indonesia. *J. Hort.* 26 (2): 223-234.
- Ghanim, M., S. Morin, and H. Czosnek. 2001. Rate of *Tomato yellow leaf curl virus* translocation in the circulative transmission pathway of its vector, the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytopathology.* 91 (2): 188-96.
- Gilbertson, R.L., S.H. Hidayat, and R.T. Martinez. 1991. Differentiation of bean infecting Geminiviruses by nucleic acid hybridization probe and aspects of *Bean golden mosaic* in Brazil. *Plant Dis.* 75: 336-342.
- Hidayat, S.H., Rusli, E.S., & Aidawati, N. 1999. Penggunaan primer universal dalam *Polymerase Chain Reaction* untuk mendeteksi virus Gemini pada cabe. Prosiding Kongres Nasional XI dan Seminar Ilmiah PFI. Purwokerto. 16-18 September 1999. 355-359.
- Hidayat, S.H., O. Chatchawankanpanich, E. Rusli, and N. Aidawati. 2006. Begomovirus associated with *Pepper yellow leaf curl* disease in West Java, Indonesia. *Journal Indon. Microbiol.* 11 (2): 87-89.
- Hunter, W.B., E. Hiebert, S.E. Webb, J.H. Tsai, and J.E. Polston. 1998. Location of Geminiviruses in the whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Plant Disease.* 82: 1147-1151.
- James, C., K. NG, and K.L. Perry. 2004. Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology.* 5 (5): 505-511.
- Kenyon, L., W.S. Tsai, S.L Shih, and L.M. Lee. 2014. Emergence and diversity of Begomoviruses infecting Solanaceous crops in East and Southeast Asia. *Virus Res.* 186: 104-113.
- Kusumaningrum, F. 2009. Seleksi Begomovirus isolat lemah pada tanaman cabai dan tomat. *Tesis*. Universitas Gadjah Mada.
- Malathi, K., K. Higaki, A.H. Tinkelenberg, D.A. Balderes, D. Almanzar-Paramio, J.L. Wilcox, N. Erdeniz, F. Redican, M. Padamsee, Y. Liu, S.

- Khan, F. Alcantara, E.D. Carstea, J.A. Morris, and S.L. Sturley. 2004. Mutagenesis of the putative sterol-sensing domain of yeast Niemann Pick C-related protein reveals a primordial role in subcellular sphingolipid distribution. *Journal of Cell Biology*. 164 (4): 547-56.
- Morissan, M.A. 2012. Metode peneltian survey. *Kencana*. Jakarta. 423 p.
- Mudmainah, S. dan Purwanto. 2010. Deteksi Begomovirus pada tanaman cabai merah dengan I-Elisa test dan teknik PCR. *Agrosains*. 12 (2): 44-49.
- Robert, I.M., D.J. Robinson, and B.D. Harrison. 1984. Serological relationship and genome homologies among Geminiviruses. *Journal Gen Virol*. 65: 1723-1730.
- Saiki, R. K., D. H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis, and H.A. Ehrlich. 1988. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 239:487-491.
- Sakata, J.J., Y. Shibuya, P. Sharma, and M. Ikegami. 2008. Strains of a new bipartite Begomovirus, *Pepper yellow leaf curl Indonesia Virus*, in leaf-curl-diseased tomato and yellow-vein-diseased ageratum in Indonesia. *Archives of Virology*. 153 (12): 2307-2313.
- Santoso, T.J., S.H. Hidayat, A.S. Duriat, M. Herman, and Sudarsono. 2008. Identity and sequence diversity of Begomovirus associated with yellow leaf curl disease of tomato in Indonesia. *Microbiology*. 2 (1): 1-7.
- Sulandari, S. 2004. Karakterisasi biologi, serologi dan analisis sidik jari DNA virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sulandari, S. 2006. Penyakit daun keriting kuning cabai di Indonesia. *Jurnal perlindungan tanaman Indonesia*. 12 (1): 1-12.
- Sulandari, S., R. Suseno, S.H. Hidayat, J. Harjosudarmo, and S. Sastromarsono. 2001. Deteksi virus gemini pada cabai di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah PFI*. Bogor 22-24 Agustus 2001. 2000-2002.
- Sulandari S., R. Suseno, S.H. Hidayat, J. Harjosudarmo, and S. Sosromarsono. 2006. Deteksi dan kajian inang virus penyebab penyakit daun keriting kuning cabai. *Hayati*. 13 (1): 1-6.
- Veniari, N.K., K.A. Yuliadhi, I.D.N. Nyana, dan G. Suastika. Deteksi *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) dan *Chili Veinal Mottle Virus* (ChiVMV) pada gulma *Commelina* spp. di pertanaman cabai (*Capsicum* spp.) melalui teknik uji serologi dan molekuler. *Agroekoteknologi Tropika*. 4 (1): 45-52.
- Wilisiani, F. 2019. Deteksi Begomovirus pada tanaman cabai di Magelang Indonesia. *AGROISTA Jurnal Agroteknologi*. 3 (1): 1-10.
- Windarningsih, M. 2015. Karakterisasi molekuler Begomovirus penyebab penyakit daun keriting kuning pada cabai rawit (*Capsicum frutescens*) di Pulau Lombok. *Disertasi*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan aplikasi *Polymerase Chain Reaction*. *Andi Publisher*. Yogyakarta. 239 p.